Untersuchungen über den Blutfarbstoff.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen philosophischen Fakultät (II. Sektion)

der

Kgl. bayr. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Paul Eppinger
aus Ludwigsburg

im November 1906.

München, 1907.
Kgl. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn.

Untersuchungen über den Blutfarbstoff.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen philosophischen Fakultät (II. Sektion)

der

Kgl. bayr. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Paul Eppinger
aus Ludwigsburg

im November 1906.

München, 1907.
Kgl. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn.

Meinem lieben Vater

in Dankbarkeit

gewidmet.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. O. Piloty, auf dessen Anregung und unter dessen liebenswürdiger Leitung die vorliegende Arbeit entstand, sowie meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat A. v. Baeyer, für das meinen Studien entgegengebrachte Wohlwollen und Interesse an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Inhalts-Übersicht.

Seite

Vorwort 9

I. Kapitel: Historische Übersicht über die bisher erworbenen Kenntnisse von Hämatin und seinen Abkömmlingen . . 10

II. Kapitel: Die empirische Formel des Hämins und Hämatins . 13

III. Kapitel: Hämin Ester oder Salz? 18

IV. Kapitel: Über das Hämatoporphyrin 22

V. Kapitel: Neue Oxydationsprodukte des Hämatoporphyrins . 28

1. Grüne Chlorierungsprodukte 30

a) Basischer Körper $C_{34}H_{40}N_3O_6Cl_3$ und sein Pikrat 32

b) Nichtbasischer Körper $C_{34}H_{41}N_4O_6Cl_2$ . . 36

c) Nichtbasischer Körper $C_{34}H_{44}N_4O_9Cl_3$ und sein Reduktionsprodukt 37

2. Die farblosen Körper 40

VI. Kapitel: Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam 41

Anhang. Über ein Cholesterinderivat, das bei der Darstellung des Hämins beobachtet wurde 45

Zusammenfassung der Ergebnisse 47

Vorwort.

Die im nachfolgenden beschriebene Untersuchung hat den Farbstoff zum Gegenstande, welcher in allen Blutsorten der Wirbeltiere enthalten ist. Über die innere Natur desselben ist noch sehr wenig bekannt und bei der ausserordentlichen Kompliziertheit des grossen Moleküls darf nicht erwartet werden, dass diese Mitteilung eine abschliessende Beantwortung der auftauchenden Fragen liefern könne, sondern es soll diese Untersuchung nur in Gemeinschaft mit den bereits von anderen unternommenen Aufklärungsversuchen dazu beitragen, den Boden weiter zu ebnen, von dem aus spätere Arbeiten vielleicht völlige Aufklärung bringen können.

Der genannte Farbstoff ist das Hämoglobin. Derselbe besteht nach den Untersuchungen zahlreicher Forscher, an deren Spitze Teichmann steht, aus zwei Teilen, dem eigentlichen Farbstoff, dem Hämatin, und einem Eiweisskörper, welcher mit diesem ziemlich locker verbunden ist und über den man bisher so gut wie nichts weiss. Es wird im folgenden die Frage nach der Natur dieses Eiweisstoffes völlig beiseite gelassen und nur vom Farbstoffteil, dem Hämatin und seinen Abkömmlingen, gehandelt werden. Die verhältnismässig grosse Kristallisationsfähigkeit des Hämoglobins verschiedener Wirbeltiere beweist, dass dasselbe ein einheitliches chemisches Individuum ist. Die verschiedenen Wirbeltierblutarten liefern Hämoglobine, welche anscheinend untereinander verschieden sind, welche aber alle den gleichen Farbstoffteil enthalten. Ihre Verschiedenheit kann demnach nur auf einer Verschiedenheit des Eiweisskörpers beruhen, welcher jeweils mit dem Hämatin verbunden ist.

I. Kapitel.

Historische Übersicht über die bisher erworbenen Kenntnisse von Hämatin und seinen Abkömmlingen.

Teichmann entdeckte 1853 durch Behandeln von Blut mit Eisessig und Kochsalz den eiweissfreien Farbstoffteil des Hämoglobins in Form mikroskopischer Kristalle, die er Hämin nannte und die für den forensischen Blutnachweis jetzt noch eine grosse Rolle spielen. Grössere Mengen dieses Hämins stellte später Nencki[1]) auf etwas anderem Wege dar. Es reihten sich dann noch andere mehr oder weniger vorteilhafte Darstellungsweisen an, wie die von Cloëtta,[2]) Rosenfeld,[3]) Mörner[4]) u. a., die alle auf dem gleichen Prinzipe beruhen, nämlich das auf besondere Weise vorbereitete Blut durch Säuren in Hämatin und Eiweiss zu spalten, welch ersteres sich in dem zugesetzten Lösungsmittel beim Kochen löst, und nach dem Abfiltrieren vom Eiweisskörper und Erkalten mit der vorhandenen Salzsäure verbunden als Hämin auskristallisiert. Zur Darstellung des Hämatins geht man am besten vom Hämin aus, aus dem es sich durch Einwirkung von wässeriger Natronlauge bildet; Hämatin, direkt aus Blut hergestellt, eignet sich wegen seiner Unreinheit nicht. Schalfejeff[5]) wendete die ursprüngliche Teichmann'sche Methode zur Darstellung von

[1]) Archiv f. experim. Pathologie Band 18, 404. 20, 325.
[2]) Ibidem 36, 349.
[3]) Ibidem 40, 137.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 29, 187.
[5]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 18. Ref. 232.

Hämin in grösserem Masstabe an. Die so dargestellten Hämine zeigten aber scheinbar nicht die gleiche Zusammensetzung und man nahm die Existenz verschiedener Hämine an. Küster[1]) wies nun nach, dass alle diese Hämine, wenn sie nach der Schalfejeff'schen Methode[2]) umkristallisiert werden, wobei die mechanischen Verunreinigungen zurückbleiben, ein und dieselbe Zusammensetzung $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ haben. Mit der neuen Häminformel musste natürlich auch für das Hämatin, wenn der Zusammenhang der gleiche bleiben soll, eine andere Formel aufgestellt werden, da man das Hämin als salzsauren Ester des Hämatins auffasste. Küster[3]) stellte den analogen Bromwasserstoff- und Essigsäureester des Hämatins dar.

Nencki und Sieber[4]) erhielten durch Behandeln mit Bromwasserstoff, in Eisessig gelöst, das intensivrote eisenfreie Hämatoporphyrin, das ein kristallisiertes Natrium- und salzsaures Salz liefert.

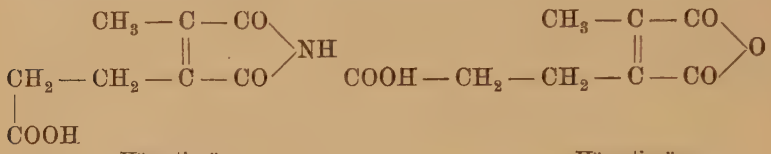
Nencki und Zaleski[5]) zeigten, dass im Hämin und Hämatoporphyrin ätherifizierbare Hydroxylgruppen vorhanden sind.

Ein dem Hämatoporphyrin sehr nahe stehendes Reduktionsprodukt, das Mesoporphyrin, erhielten Nencki und Zaleski[6]) durch Reduktion sowohl von Hämin als von Hämatoporphyrin mit Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid, von dem sie das salzsaure Salz, ferner Alkali-, Ammonium- und Schwermetallsalze darstellten. Am interessantesten ist seine Verbindung mit Eisen,[7]) die mit dem Hämin die grösste Ähnlichkeit hat und sich nur in der Differenz der Wasserstoffatome, er nennt es hydrogenisiertes Hämin, von diesem unterscheidet, ferner

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 391.
[2]) Ibidem 30, 389.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 29. I. 829.
[4]) Archiv f. experim. Pathologie 24, 432.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 30, 384.
[6]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 34, 997.
[7]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 11.

dadurch, dass es beim Behandeln mit Bromwasserstoff nicht Hämatoporphyrin, sondern Mesoporphyrin liefert.

Durch energische Oxydation des Hämatins und Hämatoporphyrins erhielt Küster die Hämatinsäuren, von denen er durch eingehende Untersuchung nachgewiesen, dass sie Derivate der Maleïnsäure sind.[1]) Die eine stellt das Imid, die andere das partielle Anhydrid der Methylcarboxyäthylmaleïnsäure dar.



Hämatinsäure
$C_8H_9O_4N$

Hämatinsäure
$C_8H_8O_5$.

Küster nimmt an, dass die Hämatinsäuren durch Oxydation von Pyrrolringen — Pyrrol war längst bei der trockenen Destillation beobachtet worden — entstanden sind. Es lassen sich ja auch Pyrrolderivate sowie Pyrrol selbst durch Oxydation in Maleïnsäurederivate überführen.

Einen weiteren Beweis für das Vorhandensein von Pyrrolringen erbringt die von Nencki und Zaleski[2]) stammende energische Reduktion des Hämins und Hämatoporphyrins mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium, wobei das mit Wasserdämpfen flüchtige Hämopyrrol entsteht, das in Form seines Pikrates oder Quecksilberdoppelsalzes isoliert werden kann. Das freie Hämopyrrol ist sehr leicht zersetzlich und färbt sich nach kurzem Stehen an der Luft rot. Seine Konstitution ist noch nicht endgültig bewiesen. Es wird als Butyl- resp. Isobutylpyrrol oder als Methyläthylpyrrol angesehen. Küster zieht auch die Möglichkeit in Betracht, dass es mit einem Hexahydroisoindol identisch sein könnte.

---

[1]) Annalen d. Chemie 315, 174. 346, 1.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 34, 997.

Piettre und Vila[1]) zweifeln daran, dass dem Hämin Pyrrol zu Grunde liegt. Sie vermuten vielmehr hochmolekulare Fettsäuren, die sie durch gemässigte Verseifung des Hämins und Hämatins erhalten haben. Nähere Angaben über die Darstellung und Eigenschaften der genannten Körper geben sie jedoch nicht an.

II. Kapitel.

Die empirische Formel des Hämins und Hämatins.

Dem nach der Schalfejeff'schen Methode dargestellten Hämin aus Pferdeblut geben Nencki und Zaleski[2]) den Namen Acethämin und stellen für denselben die empirische Formel $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ auf. Der Name Acethämin wurde diesem Präparat beigelegt, weil sich stets geringe Mengen Essigsäure nachweisen liessen. Später aber stellte sich heraus, dass die Essigsäure nur in Form einer geringfügigen Verunreinigung dem Rohprodukt anhaftet, welche durch Umkristallisieren entfernt werden kann, so dass das Schalfejeff'sche Acethämin nichts anderes als Hämin ist. Küster endlich wies nach, dass allen Häminen, auf welche Art und aus welcher Blutart sie auch dargestellt seien, die gleiche empirische Formel $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ zukommen. Das von Nencki aus Amylalkohol gewonnene Hämin, dem dieser Forscher die Formel $C_{32}H_{31}N_4O_3FeCl$ geben zu müssen glaubte und das von Mörner β Hämin genannte, für welches die Formel $C_{35}H_{35}N_4O_4FeCl$ aufgestellt wurde, auch das Cloëtta'sche von der Formel $C_{30}H_{35}N_3O_3FeCl$ sind demnach keine selbständigen chemischen

---

[1]) Comptes rendus 151. II, 736 u. 1043.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 30, 385.

Individuen, sondern nur mehr oder weniger verunreinigtes Hämin. Durch erneute Analysen von sorgfältig gereinigtem, nach der Schalfejeff'schen Methode dargestelltem Hämin konnte ich die Formel $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$ bestätigen.

Neuerdings hat v. Zeyneck[1]) durch künstliche Verdauung von Oxyhämoglobinlösung mit Pepsinsalzsäure ein Hämin gewonnen, für welches er die Formel $C_{34}H_{34}N_5O_4FeCl$ aufstellte.

Ich habe den v. Zeyneck'schen Versuch wiederholt. Man erhält dabei zunächst Hämatin und v. Zeyneck verwandelte dasselbe durch Behandeln mit Aceton und Salzsäure in Hämin. Beim Umkristallisieren dieses Produkts nach der Schalfejeff'schen Methode mit Hilfe von chininhaltigen Chloroform und Eintragen in heissem, kochsalzhaltigem Eisessig stellte sich heraus, dass ein ziemlicher Rückstand blieb, aus dem Lösungsmittel aber ein Hämin auskristallisierte, das in seinen Eigenschaften und nach dem analytischen Ergebnis völlig identisch ist mit dem Hämin, das auf andere Weise gewonnen wird.

Das v. Zeyneck'sche Hämin ist demnach ebenfalls kein selbständiges chemisches Individuum. Es kristallisiert in rhombischen Täfelchen von roter Farbe in durchfallendem, stahlblauer Farbe in auffallendem Licht.

Analyse:

0,1694 g Subst. ergaben 0,3878 g CO_2, 0,0782 g H_2O.
0,1628 g „ „ 12,9 ccm N, 16° 720 mm.

$C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$		$C_{34}H_{34}N_5O_4FeCl$ (v. Zeyneck)
Berechnet:	Gefunden:	Berechnet:
C 62,53	62,41	61,12
H 5,06	5,12	5,09
N 8,59	8,73	10,49

[1]) Ibidem 30, 126.

Man hat die Verwandlung von Hämatin in Hämin stets aufgefasst als einen einfachen Ersatz von Hydroxyl durch Chlor und demnach stimmte mit der Formel des Hämins auch unmittelbar diejenige des Hämatins fast und zwar als $C_{34}H_{34}N_4O_5Fe$. Das reine, aus Oxyhämoglobin gewonnene ist aber nicht mit Sicherheit bekannt, vielmehr wurde das reine Hämatin stets aus Hämin durch Einwirken von Alkali gewonnen. Für alle Schlüsse, welche man in Zukunft von den Eigenschaften des Hämins auf die Natur des Hämatins ziehen wird, ist die Richtigkeit der Annahme der oben erwähnten einfachen Beziehung zwischen diesen beiden Körpern natürlich von prinzipieller Wichtigkeit. Diese Annahme ist aber durchaus nicht einwandsfrei, da man bisher nicht vermochte,[1]) umgekehrt vom Hämatin wieder zum Hämin zurückzukehren. Das Fehlschlagen der in dieser Richtung hin unternommenen Versuche liess vielmehr die Vermutung gerechtfertigt erscheinen, dass das aus Hämin gewonnene Hämatin nicht identisch sei mit dem primären Abspaltungsprodukt aus Oxyhämoglobin, aus welchem ja das Hämin entstehen muss, sondern einer tiefgreifenden Einwirkung des Alkalis seine Entstehung verdankt.

Es ist daher von nicht zu unterschätzender Bedeutung, dass in der Tat auch das aus Hämin gewonnene Hämatin ganz leicht wieder in das erstere zurückverwandelt werden konnte und zwar auf folgende Weise:

Reines, nach Schalfejeff umkristallisiertes Hämin wurde in feingeriebenem Zustande in verdünnter, eiskalter Natronlauge gelöst, wovon es leicht und ohne Rückstand aufgenommen wurde, hierauf rasch in stark verdünnte Schwefelsäure einfiltriert, wodurch das Hämatin in Flocken ausgefällt wurde. Das so gewonnene, erst mit kaltem, dann mit heissem Wasser

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 396. 43, 15.

ausgewaschene Hämatin wurde nochmals in Natronlauge gelöst, mit Schwefelsäure ausgefällt und bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaktion ausgewaschen. Das bei 105° getrocknete Präparat zeigte durch folgende Analyse seine Reinheit:

0,1791 g Subst. ergaben 0,4240 g CO_2, 0,0864 g H_2O.
0,2594 g „ „ 21,3 ccm N, 16° 720 mm.
0,4284 g „ „ 0,0552 g Fe_2O_3, 0,0052 g AgCl.

Berechnet für $C_{34}H_{34}N_4O_5Fe$:		Gefunden:
C	64,35	64,56
H	5,36	5,36
N	8,83	9,05
Fe	8,83	9,02
Cl	—	0,29

Der auf obige Weise hergestellte Hämatinschlamm wurde mit chininhaltigem Chloroform ausgeschüttelt, wobei das Hämatin vollständig in die Chloroformlösung überging. Die im Scheidetrichter vom Wasser getrennte Hämatinlösung wurde in erhitzten, mit Kochsalz gesättigten Eisessig unter Umrühren eingetragen. Beim Erkalten schied sich ein nicht erkennbar kristallinisches Pulver ab, das aber Chlor aufgenommen hatte. Das Pulver wurde nochmals mit chininhaltigem Chloroform aufgelöst, wobei ein ganz geringer Rückstand blieb, und die Chloroformlösung in mit Kochsalz gesättigten Eisessig eingegossen. Nach zwölfstündigem Stehen hatten sich stahlblau glänzende Kristalle vom typischen Aussehen des Hämins ausgeschieden. Die Analyse ergab, dass in der Tat reines Hämin und zwar in nahezu quantitativer Ausbeute entstanden war.

Analyse:

0,1108 g Subst. ergaben 0,2540 g CO_2 und 0,0518 g H_2O.
0,1232 g „ „ 10,0 ccm N bei 18° und 719 mm.
0,1971 g „ „ 0,0474 g AgCl und 0,0242 g Fe_2O_3.

Berechnet für $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$:	Gefunden:
C 62,53%	62,53%
H 5,06%	5,19%
Fe 8,59%	8,59%
N 8,59%	8,83%
Cl 5,44%	5,94%

Es ist somit jeder Zweifel gehoben, dass zwischen Hämatin und Hämin der einfache Zusammenhang besteht, dass beim Übergang des ersteren in das letztere Hydroxyl durch Chlor ersetzt wird und dass das Hämatin aus Oxyhämoglobin und aus Hämin ein und dieselbe Substanz ist.

Anmerkung. Sämtliche Analysen, sowohl Kohlenstoff- und Wasserstoff- wie Stickstoffbestimmungen, wurden mit Bleichromat gemischt und im mit Bleichromat beschickten Rohr ausgeführt. Bei den halogenhaltigen Körpern ist dies absolut notwendig. Die später erwähnten grünen Substanzen lieferten nur nach dieser Methode untereinander stimmende Zahlen. Es finden sich in der Literatur oft unrichtige Angaben über diesen Punkt.

Z. B. „Die[1]) besten Resultate wurden immer erhalten, wenn die Substanz mit Kohlenoxydflamme verbrannte."

„Verbrennungen[2]) der Häminpräparate unter Zusatz von chromsaurem Blei sind nicht zu empfehlen, da dann dem aufgefangenen Stickstoff Sauerstoff beigemischt ist, welcher nachträglich entfernt werden muss."

Das Bleichromat entwickelt aber bei dieser Temperatur keinen oder doch nur ganz geringe Mengen Sauerstoff, die aber von den vorgelegten reduzierten Kupferspiralen vollständig zurückgehalten werden. Es konnte nur in einigen Fällen, in denen die Röhre besonders lang im Glühen war, ein Anlaufen eines ganz kleinen Teils der dem Bleichromat zunächst liegenden Spirale beobachtet werden. Nie aber war im aufgefangenen Stickstoff Sauerstoff nachweisbar.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 421.

[2]) Ibidem 30, 387.

III. Kapitel.

Hämin Ester oder Salz?

Wie im vorigen Kapitel auseinandergesetzt wurde, steht das Hämatin zum Hämin in einer solchen Beziehung, wie hydroxylhaltige Körper zu den entsprechenden Chloriden und als man den früheren Standpunkt, dass das Hämin das Ammoniumsalz des Hämatins sei, aufgeben musste, wurde namentlich von Nencki und später von Küster das Hämin als Salzsäureester des Hämatins aufgefasst und zwar würden nach dieser Auffassung die beiden Körper in einer ähnlichen Beziehung stehen, wie Methylalkohol zu Methylchlorid. Es soll nun in diesem Kapitel die Unwahrscheinlichkeit dieser Auffassung dargelegt werden.

Die Beantwortung dieser Frage hängt aufs innigste zusammen mit der Rolle, welche das Eisenatom im Molekül des Hämatins und Hämins spielt. Das Eisen ist in diesen Verbindungen nach Art der komplexen Substanzen gebunden, indem z. B. durch Natronlauge oder Schwefelammonium das Eisenatom nicht glatt abgespalten wird. Die Frage, ob das Eisen in zwei- oder dreiwertiger Form in diesen Derivaten des Blutfarbstoffes enthalten sei, wurde bisher nicht ernsthaft diskutiert, geschweige denn experimentell untersucht.

Durch mit Bromwasserstoff gesättigten Eisessig wird in der Kälte sowohl das Hämin als das Hämatin ganz glatt von Eisen befreit, indem ein Körper entsteht, welchen zuerst Nencki und Sieber erhalten haben und Hämatoporphyrin nannten und für welchen die empirische Zusammensetzung $C_{34}H_{38}N_4O_6$ ermittelt wurde. Von neueren Arbeiten sei z. B. erwähnt, dass Zaleski das Eisen bei Aufstellung einer diesen Vorgang versinnbildlichenden stöchiometrischen Gleichung dreiwertig[1]) auftreten lässt, Nencki, Küster und andere dagegen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 43, 15.

die Eisenverbindung, welche hierbei abgespalten wird, als Eisenoxydulsalz[1]) bezeichnen. Keiner der früheren Autoren scheint jedoch dem abgespaltenen Eisensalz experimentelle Beachtung geschenkt zu haben, so dass eine völlige Willkürlichkeit herrscht in der Einführung des Eisens als zwei- resp. dreiwertiges Atom.

Ich habe nun gefunden, dass bei der Einwirkung des Bromwasserstoffs in Eisessiglösung auf das Hämin und Hämatin das Eisen nach Entfernung des gebildeten Hämatoporphyrins in der essigsauren Reaktionsflüssigkeit als Eisenoxydsalz enthalten ist, indem es sich vollständig als Eisenhydroxyd abscheiden und sich keine Spur von Eisenoxydulsalz nachweisen lässt. Es ist daher kein Grund vorhanden, welcher der Annahme widerspricht, dass auch im Hämin und Hämatinmolekül das Eisen in dreiwertiger Form gebunden ist.

Im Hämatin nun müssen mindestens drei Hydroxyle angenommen werden und zwar zwei, welche im gleichen Sinne wirksam sind, nämlich wie ein Phenolhydroxyl, und eines, welches in von den beiden anderen verschiedenem Sinne reagiert. Wie nämlich Nencki und Zaleski[2]) beobachteten, lassen sich im Hämin zwei Hydroxylwasserstoffatome durch Alkyl ersetzen unter Bildung von Äthern. Das Hämin ist vor der Alkylierung in Alkali leicht löslich, nach der Alkylierung unlöslich. Alkylierte Hämatine sind bisher unbekannt.

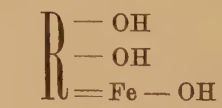
Es bleiben demnach beim Übergang von Hämatin in Hämin die beiden phenolartigen Hydroxyle erhalten, die man deshalb nicht als Carboxylhydroxyle ansehen kann, weil sich diese Körper in Natriumcarbonat lösen, ohne Kohlensäure zu entwickeln. Ein drittes Hydroxyl des Hämatins zeigt beim Übergang in Hämin die Fähigkeit, durch Chlor ersetzbar zu

[1]) Ibidem 30, 424.
[2]) Ibidem 30, 385 u. 427.

sein. Nimmt man nun mit Hilfe der obigen Reaktion das Eisen aus dem Hämatin heraus, so verschwindet mit dem Eisen in dem Molekül nicht nur ein Hydroxyl, sondern es wird zwar von dem entstandenen Körper, dem Hämatoporphyrin, Salzsäure addiert, aber es kann bei Einwirkung von Salzsäure kein Hydroxyl mehr durch Chlor ersetzt werden.

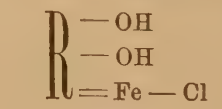
Es ist deshalb unbedingt anzunehmen, dass im Hämatin ein drittes Hydroxyl enthalten ist, welches erstens sich im Gegensatz zu den beiden anderen Hydroxylen verhält, wie dasjenige eines Metallhydroxyds, und welches zweitens an dem Eisenatom befestigt ist. Der letztere Umstand erklärt auch die nicht völlig komplexe Natur des Eisenatoms im Hämin und Hämatin, welches Veranlassung gibt zu relativ leichter Abspaltbarkeit desselben durch konzentrierte Säure.

Am einfachsten wird der Dreiwertigkeit des Eisens einerseits und der verschiedenen Natur der drei Hydroxyle im Hämatin andererseits folgendes Schema gerecht, welches ausdrücken soll, dass zwei phenolartige Hydroxylgruppen am organischen Rest, ein drittes an einem mit dem organischen Rest durch zwei komplexe Valenzen gebundenes dreiwertiges Eisenatom angeheftet ist. R soll den organischen Rest C_{34} darstellen:



Hämatin.

Der Übergang von Hämatin zu Hämin geschieht demnach in normaler Weise unter Wasseraustritt zwischen Salzsäure und der Base Hämatin und führt zu folgendem Schema von Hämin:



Hämin.

so dass das Hämin das salzsaure Salz des Hämatins und ein Eisenchlorid ist, in dem zwei Chloratome durch den organischen Rest C_{34} ersetzt sind.

Küster[1]) stellte aus Hämin durch längere Behandlung mit Anilin ein um die Elemente der Salzsäure ärmeres Hämin, das er Dehydrochloridhämin nennt, dar. Es lässt sich die Bildung dieses Körpers so erklären, dass durch die Abspaltung der Salzsäure ein inneres Salz entsteht, indem das an das Eisen gebundene Chlor mit dem Wasserstoff einer der Hydroxylgruppen als Salzsäure austritt, wie folgendes Schema versinnbildlichen soll:

Hämin. Dehydrochloridhämin.

Diese Erklärung hat auch deshalb viel wahrscheinliches für sich, da man, wenn das Chlor nicht an Eisen, sondern im Komplex gebunden wäre, zu einer ungesättigten Verbindung kommen müsste. Das Dehydrochloridhämin verhält sich aber nicht wie eine solche.

Küster[2]) glaubt nun, dass die Löslichkeit von Hämin in Basen bei Ausschluss von Wasser, wie z. B. in chininhaltigem Chloroform, auf Abspaltung von Salzsäure und Bildung von Dehydrochloridhämin beruhe. Es entspricht dies aber nicht ganz den experimentellen Tatsachen; die Abspaltung von Salzsäure tritt nur in ganz geringem Masse ein. Ich untersuchte diese Abspaltung quantitativ und fand, dass mit chininhaltigem Chloroform in der Kälte nur 0,64% nach einhalbstündigem Kochen auf dem Wasserbad am Rückflusskühler 1,02% Chlor abgespalten wurden. Die Löslichkeit ist vielmehr durch eine

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 408.
[2]) Ibidem pag. 394.

lockere Salzbildung, die von den zwei Hydroxylen ausgeht, zu erklären, was auch daraus hervorgeht, dass die Löslichkeit verloren geht, wenn die Hydroxyle alkyliert sind. Ferner löst sich auch das Hämatin ebenso leicht in chininhaltigem Chloroform, wie Hämin und hierbei kann es sich gewiss nicht um eine Abspaltung von Salzsäure handeln, da ja das Hämatin kein Chlor enthält.

IV. Kapitel.

Über das Hämatoporphyrin.

Dieser Körper entsteht, wie Nencki und Sieber entdeckten und wie schon früher erwähnt wurde, durch Einwirkung von in Eisessig gelöstem Bromwasserstoff. Das Hämatoporphyrin ist als ebenso intensiv gefärbter Körper, wie es das Hämin resp. das Hämatin selbst ist, obwohl das für letztere Substanzen charakteristische Eisenatom fehlt, an sich für die Aufklärung dieser ganzen Körperklasse nicht minder interessant und wertvoll, als seine Bildung merkwürdig und eigenartig erscheint.

Für das Verständnis seiner Bildung ist mitentscheidend die Kenntnis der Molekulargrösse des bei der Abspaltung des Eisens bleibenden organischen Komplexes. Die direkten Molekulargewichtsbestimmungen, welche von Nencki und Rotschy[1]) stammen, sind einerseits wegen der grossen Schwankungen in den erhaltenen Zahlen, andererseits auch deshalb als unrichtig zu betrachten, weil sie darauf hindeuten, dass mit der Abspaltung des Eisens eine Teilung des organischen Restes Hand in Hand geht. Diese letztere Folgerung widerspricht aber einer anderen gewichtigen Tatsache:

[1]) Monatshefte für Chemie 10, 568.

Zaleski fand nämlich, dass sowohl aus Hämin als aus Hämatoporphyrin, woraus also das Eisen schon abgespalten ist, durch Reduktion mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium ein Produkt entsteht, das sogen. Mesoporphyrin, welches zwar im Gegensatz zum Hämatoporphyrin durch Eisenaufnahme verhältnissmässig leicht in einen dem Hämin sehr ähnlichen Körper verwandelt werden kann, in seinen übrigen Eigenschaften aber dem Hämatoporphyrin ausserordentlich nahe steht. Für dieses Mesoporphyrin liess sich die Molekulargrösse und zwar mit dem Resultat bestimmen, dass es die gleiche Anzahl Kohlenstoffatome wie das Hämin und Hämatin, nämlich C_{34}, enthält.[1]) Da man nun annehmen muss, dass bei der Reduktion mit Jodwasserstoff kein tieferer Eingriff in das Molekül bewirkt wird, weil sonst nicht mit solcher Leichtigkeit ein häminähnlicher Körper aus dem Mesoporphyrin entstehen könnte, so ist der Schluss durchaus berechtigt, dass auch die Muttersubstanz des Mesoporphyrins, das Hämatoporphyrin, die gleiche Anzahl Kohlenstoffatome besitze. Durch das später zu beschreibende Pikrat, eines Oxydations- und Chlorierungsproduktes des Hämatoporphyrins, erhält dieser Schluss eine wertvolle Stütze. Die Analysenresultate ergeben demnach im Verein mit den obigen Betrachtungen für das Hämatoporphyrin als die wahrscheinlichste empirische Formel $C_{34}H_{38}N_4O_6$.

Ich übergehe daher die vor der Entdeckung des Mesoporphyrins liegenden Versuche, die Bildung des Hämatoporphyrins aus Hämin mittels einer empirischen Gleichung zu erklären und erwähne nur die von Zaleski auf Grund seiner Entdeckung aufgestellte Entstehungsgleichung:

$$C_{34}H_{32}N_4O_4FeCl + 2HBr + 2H_2O$$
$$C_{34}H_{38}N_4O_6 + FeBr_2Cl.$$

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 37, 54.

Die früheren Gleichungen nehmen teils zweiwertiges Eisen, teils die Bildung von gasförmigem Wasserstoff an. Des alleinigen Auftretens von dreiwertigem Eisen wurde schon im vorigen Kapitel Erwähnung getan. Und gasförmigen Wasserstoff habe ich selbst bei Verarbeitung grosser Quantitäten von Hämin auch nicht spurenweise beobachten können.

Dass diese Zaleski'sche Gleichung, nach welcher der Übergang von Hämin in Hämatoporphyrin ein äusserst einfacher Prozess wäre, der in der Abspaltung von Eisen durch Bromwasserstoff und Aufnahme von Wasser bestünde, den rationellen Vorgang nicht richtig beschreibt, geht aus der Betrachtung des experimentellen Verfahrens hervor. Das feingepulverte Hämin wurde in Eisessig, der unter sorgfältigem Ausschluss von jeder Spur Wasser mit Bromwasserstoff gesättigt war, ebenfalls unter völliger Verhinderung von Wasseranziehung aus der Luft gelöst und nach längerem Stehen nach der Vorschrift von Nencki und Sieber verarbeitet. Es wurde dabei die Beobachtung gemacht, dass die Ausbeuten an Hämatoporphyrin um so besser sind, je sorgfältiger Wasseranziehung vermieden wurde.[1]) Es kann daher mit Sicherheit ausgesagt werden, dass die Bildung des gegenüber dem Hämin um zwei Sauerstoffatome reicheren Hämatoporphyrins in dieser Phase der Reaktion noch nicht vollendet ist, dass vielmehr eine zweite Phase der Reaktion anzunehmen ist bei der nachherigen Behandlung des entstandenen Produkts mit Wasser und Alkali.

---

[1]) Eine wesentliche Rolle spielt auch die Konzentration des Bromwasserstoffs. Bei einer gewissen Verdünnung, die nicht sehr gross ist, bleibt die Bildung von Hämatoporphyrin aus. Daraus erklärt sich auch der missglückte Versuch Küsters (Hoppe-Seyler 28, 34), aus Hämatin in Eisessiglösung durch Zusatz von konzentriertem Bromwasserstoff Hämatoporphyrin zu gewinnen. Die Bildung erfolgt jedoch ganz leicht, wenn man die Hämatinlösung mit gasförmigem Bromwasserstoff sättigt.

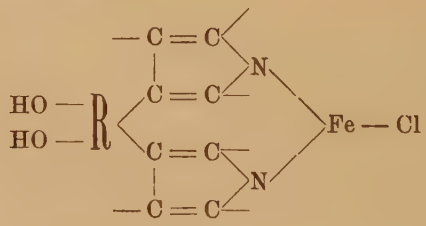
Wie schon im ersten Kapitel erwähnt wurde, haben Nencki und Nencki und Zaleski nachgewiesen, dass im Hämatin ein oder mehrere Pyrrolringe anzunehmen seien. Es wäre freilich zur Zeit noch sehr verfrüht, eine Konstitutionsformel für das Hämatin und seine Derivate aufzustellen welche auch nur einen entfernten Anspruch auf Wahrscheinlichkeit machen könnte, wie dies vor einiger Zeit einmal Nencki versucht hat. Indessen ist es vielleicht nicht unzweckmässig, schon einen diskutierbaren Boden für spätere Betrachtungen dadurch zu gewinnen, dass man aus dem bisher ziemlich dunklen Rest (R), der mit dem Eisen verbunden ist, diejenigen Teile herauszieht, welche schon etwas lichter geworden sind, wie dies vorhin mit den beiden Hydroxylgruppen geschehen ist. Und es erscheint dies auch für die Erklärung der oben genannten Reaktion nützlich und mit einiger Wahrscheinlichkeit möglich.

Das Hämin ist eine salzartige Verbindung, welche aber noch ausgeprägt sauren Charakter besitzt, was sich durch seine Löslichkeit in Alkalien zu erkennen gibt, das Gleiche gilt vom Hämatin. Dagegen sind die beiden Substanzen in verdünnten Säuren nicht oder so gut wie nicht löslich. Das Hämatin setzt sich mit Salzsäure erst unter dem Einfluss von gelinde wasserentziehenden Mitteln, wie Eisessig, um. Sowie aber das Eisen abgespalten und Hämatoporphyrin gebildet worden ist, verändert sich der Charakter der Verbindung sehr bedeutsam. Das Hämatoporphyrin ist nicht nur in Alkalien löslich und bildet zum Teil kristallisierte Salze, sondern es ist auch in verdünnten Mineralsäuren leicht löslich. Es bildet unter Aufnahme von zwei Molekülen Salzsäure ein sehr charakteristisches Chlorhydrat. Es ist also unter Beibehaltung seiner sauren Eigenschaften auch basisch geworden. Diese Basizität kann nur durch die Abspaltung des Eisens freigewordenen Imido oder Amidogruppen zugeschrieben werden. Am wahrschein-

lichsten ist es also, dass im Hämin und Hämatin das Eisen an Stickstoff gebunden ist, der erst nach Abspaltung des Metalls seine basischen Funktionen übernehmen kann.

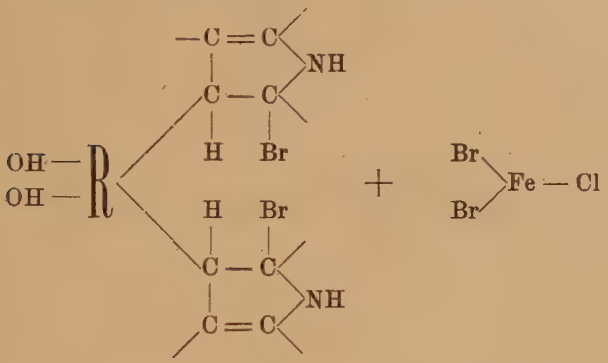
Da nun der Imidwasserstoff im Pyrrol und seinen Abkömmlingen durch Metalle vertreten werden kann und im Hämin resp. Hämatin zweifellos Pyrrolringe enthalten sind, so ist es kein allzu gewagter Schluss, dass das Eisen in diesen beiden Körpern an dem Stickstoff des Pyrrolrings angeheftet ist. Aus der Dreiwertigkeit des Eisens, von welchem im Hämin nur eine Valenz durch Halogen beansprucht ist und daraus, dass nach der Abspaltung des Eisens das Hämatoporphyrin zwei Moleküle Salzsäure addieren kann, muss man den Schluss ziehen, dass das Eisen im Hämin und Hämatin an zwei verschiedenen Pyrrolringen befestigt ist, dass somit diese Körper sicher mindestens, wahrscheinlich nur zwei Pyrrolringe enthalten.

Aus dem Gesagten ergibt sich nun die Möglichkeit, die Bildung des Hämatoporphyrins durch Bromwasserstoffeisessig und nachherige Behandlung mit Wasser und Alkali rationell zu erklären und einen tieferen Einblick in das Hämatinmolekül zu tun. Zieht man nämlich aus dem organischen Rest, der ausserdem zwei phenolartige Hydroxyle enthält, zwei Pyrrolringe heraus, in denen immer zwei Kohlenstoffatome paarweise unter sich doppelt gebunden sind, deren Substituenten aber zunächst unberücksichtigt bleiben sollen, so ergibt sich für das Hämin folgendes Bild:

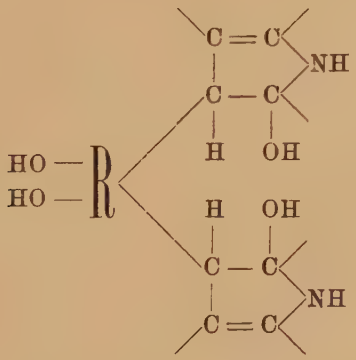


Hämin.

Bei der Einwirkung von Bromwasserstoffeisessig wird einerseits das Eisen als Bromochlorid abgespalten und zwei Moleküle Bromwasserstoff addiert, so dass als Zwischenprodukt der sehr unbeständige Körper



angenommen werden muss, der dann bei der Behandlung mit Wasser und Alkali Brom abspaltet und durch Hydroxyl ersetzt:



Die Bildung des Hämatoporphyrins geht demnach im Sinne der folgenden beiden empirischen Gleichungen vor sich, welche ein Bild geben, das der experimentellen Beobachtung besser angepasst erscheint, als die Zaleski'sche.

I. Phase: $C_{34}H_{32}N_4O_4FeCl + 4HBr$
$= C_{34}H_{36}N_4O_4Br_2 + FeClBr_2.$

II. Phase: $C_{34}H_{36}N_4O_4Br_2 + 2H_2O$
$= C_{34}H_{38}N_4O_6 + 2HBr.$

V. Kapitel.

Neue Oxydationsprodukte des Hämatoporphyrins.

Die Oxydation des Hämatoporphyrins führt bei Anwendung der allermeisten Oxydationsmittel zu den sogen. Hämatinsäuren, deren Kenntnis wir den ausgezeichneten Arbeiten W. Küsters verdanken. Das Wertvollste an der Kenntnis dieser Säuren ist bislang der Umstand, dass sie den auch auf andere Weise nachgewiesenen Pyrrolring, der ja bekanntlich die Brücke bildet zwischen Blut- und Chlorophyllfarbstoff, in der Form von Maleïnsäureimid-Derivaten enthalten. Zwischen dem Hämatin und seinen Derivaten mit dem Kohlenstoffgehalt C_{34} und den Hämatinsäuren mit dem Kohlenstoffgehalt C_8 besteht eine weite Kluft, die für den Gedanken kein Mittelglied verbindet. Mögen diese Hämatinsäuren später, wenn diese Kluft durch Mittelglieder mehr ausgefüllt sein wird als bisher, ein sehr wertvolles Material werden für die Erkennung der Struktur des Blutfarbstoffes, so geben sie doch jetzt noch gar keinen Anhaltspunkt, welchen der Gedanke benützen könnte, um aufbauende Versuche daran zu knüpfen.

Es besteht daher immer noch zu allernächst die Aufgabe, das Hämatin resp. Hämatoporphyrinmolekül derart zu verändern, dass es noch dem Ausgangspunkt nahe steht und nicht in so kleine Bruchstücke zerfällt, wie es die Hämatinsäuren sind.

Es ist dies teilweise gelungen durch das Studium der Einwirkung von nascierendem Chlor unter besonderen Bedingungen, wenn auch der Reinigung und völligen Feststellung der hierbei erhaltenen Produkte sich grosse und unerwartete Hindernisse in den Weg stellten, die zu beseitigen noch nicht ganz geglückt ist.

Das aus chlorsaurem Natrium und Salzsäure entwickelte Chlor liefert nach den weiter unten näher zu beschreibenden Umständen eine Reihe verschiedenartiger Körper, von denen sich zwei Stufen deutlich unterscheiden lassen. Die erste Stufe bei gemässigter Einwirkung des Chlors besteht aus einem Gemisch von Chlorierungs- resp. Oxydationsprodukten von blattgrüner Farbe, welche sich wieder in zwei Unterstufen scheiden lassen. Die eine ist ein schwach basischer Körper mit dem gleichen Kohlenstoff- und Sauerstoffverhältnis, wie es im Hämatoporphyrin besteht, von der empirischen Zusammensetzung $C_{34}H_{40}N_3O_6Cl_3$ und ein saurer Körper ohne basische Eigenschaften, von dem sich das Gleiche sagen lässt und welcher annähernd die empirische Zusammensetzung $C_{34}H_{41}N_4O_6Cl_2$ besitzt. Die andere Unterstufe besteht aus einem Chlorierungs- und Oxydationsprodukt von der ungefähren empirischen Zusammensetzung $C_{34}H_{41}N_4O_9Cl_3$, welcher sich seines Chlorgehalts so gut wie vollständig berauben lässt und dann ein Reduktionsprodukt liefert, für welches die empirische Formel $C_{34}H_{44}N_4O_9$ bisher als die passendste erscheint. Alle Körper dieser Stufe haben Eigenschaften, welche es als sehr wahrscheinlich erscheinen lassen, dass sie dem Hämatoporphyrin noch sehr nahe stehen und es wurden deshalb ihre Formeln vorläufig auf den gleichen Kohlenstoffgehalt berechnet, wie ihn das Hämatoporphyrin besitzt. Es soll aber damit nicht etwa als ausgeschlossen bezeichnet werden, dass dem letzteren Körper bei der Behandlung mit Chlor nicht das eine oder andere kleine Bruchstück verloren gegangen sein könnte.

Der Körper $C_{34}H_{40}N_3O_6Cl_3$ lässt sich mit Pikrinsäure zu einem kristallinischen Produkt vereinigen, so zwar, dass mit einem Komplex C_{34} ein Molekül Pikrinsäure sich verbindet, wodurch einerseits die Annahme sehr verstärkt wird, dass dem Hämatoporphyrin wirklich 34 Kohlenstoffatome angehören, andererseits die nahe Verwandtschaft des basischen Körpers mit dem Hämatoporphyrin einleuchtet.

Die andere Stufe der Einwirkung von Chlor bei erschöpfender Behandlung durch dieses Agens führt zu einem Gemisch nahezu farbloser Körper, aus welchen kristallinische Körper bisher nicht ausgezogen werden konnten, von denen sich aber sagen lässt, dass sie dem Hämatoporphyrin schon ferner stehen als die Körper der ersten Stufe und dass sie wohl in der Mitte stehen werden zwischen diesem Stoff und den Hämatinsäuren und noch ziemlich hochmolekulare Körper sind.

1. Grüne Chlorierungsprodukte.

50 g Hämatoporphyrin werden in 1250 ccm Eisessig gelöst und das Gefäss in einem Wasserbad auf 35—40° erwärmt; dann gibt man 125 ccm konzentrierte Salzsäure (spez. Gew. 1,19) hinzu und lässt unter beständigem lebhaften Umrühren mit einem mechanischen Rührwerk aus einem Tropftrichter eine 50%ige Natriumchloratlösung so langsam zufliessen, dass in drei Sekunden etwa ein Tropfen in die Reaktionsmasse tropft. Es darf hierbei der Geruch nach freiem Chlor nicht auftreten, auch darf die Temperatur der Flüssigkeit nicht über höchstens 45° steigen. Die anfangs violettrote Lösung nimmt allmählich eine braungrüne Farbe an und wird endlich rein grün. Man fährt mit dem Zusatz von Natriumchlorat so lange fort, bis eine Probe der Flüssigkeit, in viel Wasser gegossen, einen rein grünen, flockigen Niederschlag ausfallen lässt und die überstehende Lösung nur noch schwach rötlich gefärbt ist.

Bis dieser Punkt erreicht ist, verbraucht man etwa 100 g der 50%igen Natriumchloratlösung. Man dampft nun zunächst die Flüssigkeit im Vacuum auf ein Fünftel ihres Volumens ein, wobei sich ein grosser Teil des gebildeten Kochsalzes abscheidet, und giesst die konzentrierte Lösung in das zwanzigfache Volumen Wasser, wodurch ein grasgrüner Niederschlag in sehr voluminösen amorphen Flocken ausfällt. Man lässt den Niederschlag so gut wie möglich absitzen und dekantiert die überstehende grünliche, schwach rot fluoreszierende Flüssigkeit. Durch mehrmaliges Auffüllen mit destilliertem Wasser und Dekantieren entfernt man den grössten Teil des Kochsalzes und der Salzsäure, filtriert endlich auf einer Nutsche, wäscht mit Wasser nach, bis das Filtrat nur noch eine schwache Chlorreaktion zeigt, und trocknet den grünen Niederschlag zuerst auf porösen Tontellern und alsdann über Schwefelsäure im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur.

Das amorphe hellgrüne Produkt besteht aus einem Gemisch der oben erwähnten Körper, welchen in Wasser unlösliche Substanzen beigemengt sind, die ihre Entstehung der nicht ganz zu vermeidenden erschöpfenden Chloreinwirkung verdanken. Diese letzteren werden so gut wie vollkommen dem Gemisch entzogen, indem man dasselbe auf dem Wasserbad der Extraktion mit Äther im Soxhlet'schen Apparat unterwirft. Es gehen hierbei anfangs nicht unbeträchtliche Mengen der grünen Substanzen in Lösung, welche nur durch die übrigen Verunreinigungen in Lösung gehalten werden, an und für sich aber in Äther kaum löslich sind. Man setzt die Extraktion solange fort, bis der abfliessende Äther nur noch ganz schwach grün gefärbt ist, was ungefähr zwei Tage in Anspruch nimmt.

Der Rückstand stellt nun ein dunkelgrünes Pulver dar, das leicht löslich in Alkoholen, Aceton und Eisessig, schwer resp. unlöslich ist in Wasser, Äther, Chloroform, Essigäther,

Benzol etc. Der basische Körper ist darin an eine chlorierte Essigsäure gebunden: denn nach dem Ausfällen desselben mittels Pikrinsäure findet sich im Filtrat eine flüchtige, nach Chloressigsäure riechende Säure und der Gesamtgehalt an Chlor ist erheblich zurückgegangen nach Entfernung der letzteren.

a) Basischer Körper $C_{34}H_{40}N_3O_6Cl_3$ und sein Pikrat.

Die Abscheidung dieses Körpers gelingt am besten mit Pikrinsäure, mit der er ein in kaltem Alkohol ziemlich schwer lösliches Salz bildet. Man löst zu diesem Zweck das oben erwähnte, mit Äther bis zur Erschöpfung extrahierte Substanzgemisch in drei Teilen absolutem Alkohol in der Kälte auf und versetzt die filtrierte Lösung mit dem gleichen Volumen einer Pikrinsäurelösung, die einen Teil Pikrinsäure in 16 Teilen absolutem Alkohol gelöst enthält, und kühlt mit Eiswasser ab. Nach etwa zwölfstündigem Stehen saugt man den ausgefallenen blaugrünen, körnigen Niederschlag ab und wäscht mit wenig kaltem absolutem Alkohol nach, bis letzterer nur noch schwach grünlich gefärbt abläuft. Beim Auswaschen hat man darauf zu achten, dass der Niederschlag stets mit Alkohol bedeckt ist. Zum Schluss saugt man scharf ab und bringt möglichst rasch in einen mit Schwefelsäure beschickten Exsiccator und trocknet im Vacuum. Dieses Rohprodukt hat nämlich die Eigenschaft, dass es in dem mit Alkohol befeuchteten Zustande bei der Berührung mit der Luft zu einer teigartigen Masse zusammenfliesst, die aber nach dem Trocknen vollständig hart und leicht zerreiblich wird. Es ist dieses Verhalten nicht etwa auf eine Wasseranziehung aus der Luft zurückzuführen, da diese Erscheinung nicht immer, aber meistens eintritt, ferner da die einmal trockene Substanz absolut luftbeständig ist und auch bei längerem Erhitzen auf 60° im Vacuum keinen Gewichtsverlust erleidet. Es ist vielmehr anzunehmen, dass eine geringe Verunreinigung die Ver-

anlassung gibt. An dem umkristallisierten Produkt ist diese Beobachtung auch nie mehr gemacht worden.

Zur Reinigung wird das Rohprodukt in der fünffachen Menge kochendem absolutem Alkohol gelöst, filtriert, zunächst langsam erkalten gelassen und schliesslich in Eis gestellt. Der ausgefallene sandige Niederschlag wird auf der Nutsche gesammelt, mit kaltem absolutem Alkohol nachgewaschen und getrocknet. Er stellt nun ein dunkelgrünes, feinkörniges, kristallinisches Pulver mit einem schwachen Stich ins Bläuliche vor. Unter dem Mikroskop stellt die Substanz kleine warzenförmige Kügelchen vor, die meistens zu Stäbchen aneinandergelagert sind. Die Substanz ist in Wasser, Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol etc. so gut wie unlöslich, in kaltem Alkohol schwer, in heissem leichter löslich. Ein eigentümliches Verhalten zeigt der Körper Lösungsmittelgemischen gegenüber. Während der Körper in reinem Benzol so schwer löslich ist, dass selbst beim Kochen die Flüssigkeit kaum eine schwache Färbung annimmt, wird er von diesem Lösungsmittel spielend selbst in der Kälte aufgenommen, wenn man demselben eine Spur Alkohol, Äther oder Chloroform zusetzt, obwohl die Substanz auch in diesen Solventien sehr schwer löslich oder unlöslich ist. Die gleiche Erscheinung tritt bei Umkehrung des Verfahrens ein. Lässt man z. B. eine solche benzolische Lösung, die durch Zusatz einer Spur Alkohol bewirkt wurde, solange über Chlorcalcium stehen, bis aller Alkohol wieder verdunstet ist, so fällt die Substanz wieder vollständig aus in denselben Aggregaten, wie sie oben beschrieben wurden. Für die Analyse ist es indessen zweckmässiger, den Körper aus heissem Alkohol umzukristallisieren.

Erst beim Erhitzen über 200° beginnt die Substanz sich aufzublähen und zu zersetzen, ohne vorher zu schmelzen.

Die Analyse ergab folgende Resultate:

1. Präparat:

0,1411 g ergaben 0,2734 g CO_2 und 0,0630 g H_2O.
0,1781 g „ 14,3 ccm N bei 718 mm und 16° C.
0,1636 g „ 0,0866 g AgCl.

2. Präparat:

0,1799 g ergaben 0,3504 g CO_2 und 0,0790 g H_2O.
0,1727 g „ 1415 ccm N bei 716 mm und 18° C.
0,1710 g „ 0,0890 g AgCl.

3. Präparat:

0,1815 g ergaben 0,3538 g CO_2 und 0,0827 g H_2O.
0,2278 g „ 18,55 ccm N bei 712 mm und 20° C.
0,2481 g „ 0,1260 g AgCl.

Berechnet	Gefunden		
$C_{40}H_{44}N_6Cl_8O_{13}$:	1. Pr.:	2. Pr.:	3. Pr.:
C 52,04%	52,84%	53,11%	53,16%
H 4,77%	4,96%	4,87%	5,06%
N 9,10%	8,83%	8,90%	8,72%
Cl 11,54%	13,09%	12,87%	12,54%

Schon der hohe Stickstoff- und Sauerstoffgehalt liess darauf schliessen, dass Pikrinsäure in das Molekül eingetreten war. Zur quantitativen Bestimmung der letzteren wurden 3,2430 g Substanz in wenig Benzol, dem einige Tropfen Alkohol zugesetzt waren, gelöst und mit der auf zwei Moleküle Pikrinsäure berechneten Menge (1,074 g) Akridin, in Benzol gelöst, zugesetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Das in kleinen Kriställchen abgeschiedene Akridinpikrat wurde auf einem Gooch-Tiegel abfiltriert, mit alkoholhaltigem Benzol nachgewaschen, bis letzteres ziemlich farblos ablief, und bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Es konnten 1,1032 g Akridinpikrat isoliert werden.

	Berechnet:	Gefunden:
Auf ein Molekül Pikrinsäure	1,227 g	1,1032 g
„ zwei „ „	2,454 g	

Es ist also in dem Körper $C_{40}H_{44}N_6Cl_3O_{13}$ ein Molekül Pikrinsäure enthalten und für die dem Pikrat zu Grunde liegende Base berechnet sich die Formel $C_{34}H_{40}N_3O_6Cl_3$.

Zur Darstellung der freien Base wurde das Pikrat in alkoholhaltigem Benzol gelöst, ein Zehntel mehr als die berechnete Menge Akridin, in Benzol gelöst, zugesetzt und zur Abscheidung des Pikrats 24 Stunden beiseite gestellt; hierauf wurde abfiltriert, eingedampft und der Verdampfungsrückstand zur Entfernung des überschüssigen Akridins mit Schwefelkohlenstoff ausgezogen. Alsdann wurde in alkoholhaltigem Benzol gelöst und der Alkohol durch Stehenlassen im Exsiccator über Chlorcalcium weggedunstet. Es schied sich eine braun gefärbte, etwas schmierige Substanz ab. Bei der Chlorbestimmung zeigte sich, dass trotz sechsstündigem Erhitzen auf 250° nicht alle Substanz zerstört war. Zwischen dem gebildeten Chlorsilber waren rote kristallinische Täfelchen zu beobachten und beim Öffnen des Rohres war ein deutlicher Nitrobenzolgeruch wahrnehmbar. Da dies bei dem Pikrat und auch bei Hämin und Hämatin nie beobachtet worden war, lag der Verdacht nahe, dass dieser rote Körper von in das Molekül der Base eingetretenem Akridin herrühren könne. Ein unter den gleichen Bedingungen mit reinem Akridin angestellter Versuch zeigte gleichfalls das Auftreten des roten Körpers, das ein Nitrierungsprodukt des Akridins, das rote Tetranitroakridin, vorstellte. Diese Vermutung wurde noch dadurch bestätigt, dass die Lösung dieses durch die Behandlung mit der berechneten Menge Akridin erhaltenen Körpers in alkoholhaltigem Benzol mit Pikrinsäure nach längerem Stehen feine Nädelchen von Akridinpikrat ausfallen liess. Auf diese Weise war also die Base nicht in reinem Zustand zu gewinnen.

Es wurde nun statt mit Akridin die Zersetzung mit Kali versucht. Die Lösung des Pikrats in alkoholhaltigem Benzol wurde mit der berechneten Menge methylalkoholischer Kali-

lauge in kleinen Portionen nach und nach versetzt, das nach einigem Stehen ausgeschiedene Kaliumpikrat abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Es zeigte sich aber, dass das Kali zugleich auch chlorabspaltend gewirkt hatte; denn der mit Wasser zerriebene Verdampfungsrückstand gab ein stark chlorhaltiges Filtrat. Dies trat auch ein, als nur die Hälfte der berechneten Menge Kalilauge in sehr kleinen Portionen und sehr langsam eingetragen wurde. Da also organische Basen die Pikrinsäure nicht aus der Verbindung herausnehmen, ohne teilweise selbst dafür in das Molekül einzutreten, freies ätzendes Alkali aber zwar die Pikrinsäure, zugleich jedoch Chlor abspaltet, so musste vorläufig auf die Reingewinnung des dem Pikrat zu Grunde liegenden basischen Körpers verzichtet werden solange, bis der Besitz grösserer Quantitäten des Salzes die energische Inangriffnahme dieser Frage gestatten wird.

b) Nichtbasischer Körper $C_{34}H_{41}N_4O_6Cl_2$.

Die vom eben beschriebenen Pikrat abfiltrierte stark saure Lösung wird zunächst im Fraktionierkolben im Vacuum, dann über Schwefelsäure und Ätzkali zur Trockene verdampft. Um die im Überschuss zugesetzte Pikrinsäure und die von der letzteren verdrängte chlorierte Essigsäure zu entfernen, wird der Trockenrückstand fein zerrieben und mit wasserhaltigem Äther (in letzterem ist die Pikrinsäure leichter löslich als in reinem) zunächst in einer Flasche längere Zeit geschüttelt, dann im Soxhlet'schen Extraktionsapparat noch solange extrahiert, bis der Äther nur noch ganz schwach grünlich gefärbt abläuft. Es zeigt sich auch hier wieder die Erscheinung, dass, offenbar durch die Verunreinigung mit Pikrinsäure, mehr von der Substanz in Lösung geht, als wenn letztere rein ist. Das nun zurückbleibende dunkelgrüne Pulver wird in der achtfachen Menge kochendem absolutem Alkohol gelöst, filtriert und erkalten gelassen. Nach zwölfstündigem Stehen in der Kälte

hat sich ein hellgrüner Niederschlag abgesetzt, der abgesaugt und mit kaltem Alkohol nachgewaschen wird. Ausgesprochen kristallinische Struktur ist an ihm nicht zu erkennen. Zur Reinigung löst man ihn in fünf Teilen kochendem absolutem Alkohol und lässt in der Kälte stehen. Nach dem Abfiltrieren und Trocknen im Vacuum bei 60° bis zur Gewichtskonstanz gab er folgende Analysenzahlen, die auf die Formel $C_{34}H_{40}N_4O_6Cl_2$ ziemlich gut stimmten.

1. Präparat:

0,1632 g Subst. ergaben 0,3560 g CO_2 und 0,0920 g H_2O.
0,1719 g „ „ 12,5 ccm N bei 25° C. und 718 mm.
0,1984 g „ „ 0,0700 g AgCl.

2. Präparat:

0,1378 g Subst. ergaben 0,3014 g CO_2 und 0,0750 g H_2O.
0,1520 g „ „ 10,9 ccm N bei 719 mm und 23° C.
0,0940 g „ „ 0,0348 g AgCl.

Berechnet $C_{34}H_{40}N_4O_6Cl_2$:	Gefunden:	
C 60,71%	1. Pr. 59,99%	2. Pr. 59,65%
H 6,10%	6,26%	6,04%
N 8,33%	7,88%	7,63%
Cl 10,56%	8,72%	9,15%

Der Körper ist von grüner Farbe mit einem schwachen Stich ins Olivgrüne. Die Lösungen sind reingrün. Er löst sich schwer in kaltem, leichter in heissem Alkohol. In Eisessig ist er sehr leicht löslich. Er zeigt nicht das eigentümliche Verhalten gegenüber „künstlich verunreinigten“ Lösungsmitteln, wie das Pikrat.

c) Körper $C_{34}H_{44}N_4O_9Cl_3$ und sein Reduktionsprodukt.

Das Filtrat vom Körper $C_{34}H_{41}N_4O_6Cl_2$ wurde im Vacuum zur Trockene verdampft, der Verdampfungsrückstand in kaltem absolutem Alkohol aufgenommen, worin er leicht und ohne

Rückstand löslich war. Beim Eindampfen hinterblieb ein amorpher, glänzender, dunkelgrüner Körper, der in Alkohol und Eisessig sehr leicht und mit reingrüner Farbe löslich war, in den anderen Lösungsmitteln aber so gut wie unlöslich ist. Es gelang nicht, aus diesem Rückstand Substanzen verschiedener Zusammensetzung und Eigenschaften zu isolieren. Aus der Analyse ergaben sich Zahlen, die annähernd auf die Formel $C_{34}H_{44}N_4O_9Cl_3$ stimmten.

1. Präparat:

0,1654 g Subst. ergaben 0,3443 g CO_2 und 0,0906 g H_2O.
0,2144 g „ „ 13,9 ccm N bei 723 mm und 23° C.
0,2246 g „ „ 0,0962 g AgCl.

2. Präparat:

0,2464 g Subst. ergaben 0,4896 g CO_2 und 0,1268 g H_2O.
0,2280 g „ „ 14,6 ccm N bei 27° C und 718 mm
0,2760 g „ „ 0,1478 g AgCl.

Berechnet:	Gefunden:	
C 54,00%	1. Pr. 56,76%	2. Pr. 54,19%
H 5,43%	6,08%	5,71%
N 7,41%	6,94%	6,68%
Cl 14,09%	10,59%	13,24%

Aus den schwankenden Zahlen des Chlorgehalts muss man schliessen, dass hier ein Körper vorliegt, der durch einen zweiten in geringerer Menge auftretenden verunreinigt ist, der ein niedrigeres Chlorierungsprodukt derselben Stammsubstanz darstellt, da die Verhältnisszahlen der übrigen Elemente ziemlich konstant bei allen Darstellungen bleiben. Es wurde daher versucht, durch Eliminierung des Chlors einen einheitlichen Körper zu gewinnen. Dasselbe lässt sich jedoch nicht ganz vollständig durch nascierenden Wasserstoff entfernen.

4 g des obigen Körpers wurden in 40 ccm Eisessig gelöst und die Lösung zu einer Suspension von viel überschüssigem

Zinkstaub in Eisessig allmählich unter Umschütteln und Abkühlen zugegeben. Die grüne Farbe verschwindet und macht einer braunroten Platz. Man saugt nun vom überschüssigen Zinkstaub ab, giesst die Eisessiglösung in etwa das zwanzigfache Volumen Wasser unter Umrühren ein. Es scheidet sich ein dunkelbrauner amorpher Niederschlag in voluminösen Flocken ab, den man zunächst durch Absitzenlassen, Dekantieren und Aufgiessen mit destilliertem Wasser und schliesslich auf dem Filter auswäscht, bis das Waschwasser nur noch schwache Chlorreaktion zeigt. Man presst nun auf Ton ab und löst noch feucht in wenig kochendem absolutem Alkohol, filtriert und stellt in Eiswasser. Nach einigen Stunden hat sich ein schmutzig graubrauner Niederschlag abgesetzt, von dem abfiltriert wurde. Das schön hämatoporphyrinrote Filtrat wurde im Vacuum zur Trockne verdampft, in kaltem absolutem Alkohol gelöst, wobei es ohne Rückstand in Lösung ging. Nach dem Eindampfen im Vacuum hinterblieb eine braunrote, glänzende Masse, der die Formel $C_{34}H_{41}N_4O_9$ zukommt.

Analyse:

1. Präparat:

0,1239 g Subst. ergaben 0,2806 g CO_2 und 0,0782 g H_2O.
0,1436 g „ „ 10,3 ccm N bei 23° und 721 mm.

2. Präparat:

0,1723 g Subst. ergaben 0,3892 g CO_2 und 0,1032 g H_2O.
0,1912 g „ „ 13,3 ccm N bei 22° und 719 mm.
0,2205 g „ „ 0,0256 g AgCl.

Berechnet:	Gefunden:	
C 62,58%	1. Pr. 61,77%	2. Pr. 61,60%
H 6,75%	7,01%	6,65%
N 8,59%	7,66%	7,44%
Cl —	—	2,94%

Dieses Reduktionsprodukt sieht dem Hämatoporphyrin sehr ähnlich. Die Lösungen in Alkohol und Eisessig sehen wie

solche Hämatoporphyrinlösungen aus. Es unterscheidet sich aber von diesem dadurch, dass ihm gar keine basischen Eigenschaften mehr zukommen, d. h. es ist in verdünnten Säuren ganz unlöslich. Auch in verdünnter Natronlauge ist es in der Kälte unlöslich. Beim Erwärmen löst es sich unter Zersetzung.

Schlussbemerkung. Dass die Untersuchung noch nicht zu einem völligen Abschluss kommen konnte, liegt zum grossen Teil an der Eigenschaft dieser Substanzen, sich gegenseitig in Lösung zu halten, selbst in Lösungsmitteln, in denen der einmal isolierte Körper absolut unlöslich ist. Man erleidet durch diesen Umstand empfindliche Zeit- und Materialverluste, so dass man hier nur unter Anwendung grösserer Materialmengen, als sie zur Zeit zur Verfügung standen, weiter vordringen können wird.

2. Die farblosen Körper.

Fährt man mit dem Zusatz von chlorsaurem Natrium unter den gleichen Bedingungen, wie bei der Darstellung der grünen Körper angegeben, weiter, so wird die Farbe der Oxydationsflüssigkeit immer heller grün und schliesslich hellgelb. Bis zu diesem Punkt wird etwa die doppelte Menge Natriumchlorat verbraucht, als Hämatoporphyrin angewendet wurde. Konzentriert man nun durch Eindampfen im Vacuum die Reaktionsflüssigkeit, so fällt beim Eingiessen in Wasser ein weisser amorpher Niederschlag aus, der nach dem Trocknen ein weisses, in Alkohol, Äther und Eisessig leicht lösliches Pulver vorstellt, das einen hohen Chlorgehalt aufweist.

Seinen Eigenschaften nach steht dieser Körper zwischen dem Hämin und den Hämatinsäuren. Denn einerseits ist er nicht mehr gefärbt und gibt auch beim Behandeln mit Reduktionsmitteln keine gefärbte Substanzen, andererseits ist das Molekül noch nicht so weit abgebaut, wie das der Hämatin-

säuren; denn durch Reduktion mit Jodwasserstoff und Jodphosphonium entsteht aus ihm Hämopyrrol, es müssen also noch ein oder mehrere intakte Pyrrolringe in dem Körper enthalten sein.

Beim Behandeln mit konzentrierter Natronlauge erwärmt sich die Masse sehr stark und es konnte nach dem Ansäuern mit Essigsäure und Destillieren mit Wasserdampf eine geringe Menge eines flüchtigen Öls von charakteristischem Geruch, etwa wie nach frischem Bilsenkraut, erhalten werden. Die bisher erhaltene Menge dieses Öls ist eine so geringe, dass seine Untersuchung noch nicht bis zu einem greifbaren Resultat durchgeführt werden konnte.

Es ist möglich, dass dieser farblose Körper, der Hämopyrrol und dieses Öl liefert, die Zwischenstufe zwischen Hämin und den Hämatinsäuren darstellt, von welcher oben gesprochen wurde und es ist deshalb seine nähere Untersuchung in Aussicht genommen, sowie grössere Mengen des Materials zur Verfügung stehen.

VI. Kapitel.

Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam.

Die Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam führt zu sehr auffallenden und merkwürdigen Erscheinungen. Bei völligem Abschluss der Luft wird das Hämatoporphyrin von dem nascierenden Wasserstoff sehr schnell angegriffen und, nachdem sechs Atome Wasserstoff verbraucht sind pro Molekül Hämatoporphyrin, resultiert eine nahezu farblose Lösung, welche die Eigenschaft hat, unter intensiver Braunrotfärbung Sauerstoff begierig aus der Luft aufzunehmen. Bei

dieser Reaktion wird kein Stickstoff abgespalten und das nach der Sauerstoffaufnahme erhaltene Produkt ist nicht mit dem Hämatoporphyrin identisch.

Diese Beobachtungen stehen im Widerspruch mit denjenigen von Nencki und Sieber,[1]) als sie eine alkalische Hämatoporphyrinlösung mit 10%igem Natriumamalgam zu reduzieren versuchten. Ich lasse die Versuche dieser Forscher, welche zu keinem Abschluss gelangten, einstweilen dahingestellt und werde im folgenden die Ergebnisse meiner Untersuchung mitteilen.

Es wurde gepulvertes, reines Hämatoporphyrin in eine Flasche gebracht, die mit einem Gummistöpsel versehen war, in dessen Bohrung ein Glasrohr mit Hahn eingeführt wurde, so dass sein Ende nicht über den Stopfen hervorragte. Nach Zugabe von etwa der zwanzigfachen Menge des Hämatoporphyrins an Wasser wurde 2½%iges Natriumamalgam in geringem Überschuss (auf 5 g Hämatoporphyrin ca. 70 g Amalgam) hinzugefügt und unter zeitweiligem Einstellen in Eiswasser so lange geschüttelt, bis die Lösung entfärbt war. Hierauf kehrt man die Flasche um und lässt durch den Glashahn das überschüssige Quecksilber abfliessen. Die Reduktionsflüssigkeit färbt sich bei Berührung mit der Luft augenblicklich rotbraun. Verdünnte Säuren fällen aus der frisch reduzierten, farblosen Lösung einen anfangs fast weissen, durch Oxydation an der Luft rasch braunrot werdenden Niederschlag aus. Die Lösung hat stark reduzierende Eigenschaften: reduziert Fehling'sche Lösung und ammoniakalische Silberlösung beim Stehen in der Kälte.

Es gelang aber nicht, das Reduktionsprodukt in irgend welche analysierbare Form zu bringen, wegen der ausserordentlichen Begierde, Sauerstoff aus der Luft zu absorbieren.

---

[1]) Archiv f. experim. Pathologie 20, 330.

Es wurde deshalb das durch Oxydation mit Sauerstoff entstandene Produkt untersucht. Die oben beschriebene farblose vom Quecksilber befreite Lösung wurde filtriert und längere Zeit Sauerstoff durchgeleitet, hierauf die rotbraune alkalische Lösung mit verdünnter Schwefelsäure schwach sauer gemacht. Es fiel ein rotbrauner, flockiger Niederschlag von der Farbe des Hämatoporphyrins aus, der nach dem Auswaschen und Trocknen bis zum konstanten Gewicht analysiert wurde. Die Analyse ergab, dass ein Körper der Formel $C_{34}H_{38}N_4O_5$ vorlag.

Analyse:

1. Präparat:

0,2271 g Subst. ergaben 0,5781 g CO_2 und 0,1399 g H_2O.
0,1690 g „ „ 15,35 ccm N bei 15° und 723 mm.

2. Präparat:

0,2130 g Subst. ergaben 0,5411 g CO_2 und 0,1328 g H_2O.
0,1956 g „ „ 18,5 ccm N bei 24° und 716 mm.

Berechnet:	Gefunden:	
C 70,10%	1. Pr. 69,42%	2. Pr. 69,24%
H 6,53%	6,84%	6,90%
N 9,62%	10,11%	9,97%

Dieser neue Körper unterscheidet sich vom Hämatoporphyrin nur durch ein Minus von einem Sauerstoffatom. Stickstoff wurde unter den obigen Bedingungen nicht abgespalten, auch konnte kein Ammoniakgeruch an der Reduktionsflüssigkeit wahrgenommen werden. Äusserlich ist er dem Hämatoporphyrin vollkommen gleich. Chemisch hat er mit demselben die Löslichkeit in Basen gemeinsam; es gelang jedoch nicht, ein kristallisiertes Salz zu erhalten. Die Basizität hat aber im Vergleich zum Hämatoporphyrin abgenommen. In verdünnten Säuren ist die neue Substanz kaum löslich, in konzentrierter Salzsäure tritt Lösung mit himbeerroter Farbe ein,

beim Verdünnen mit Wasser fällt aber der grösste Teil wieder aus. Auch in Alkohol ist sie im Gegensatz zu Hämatoporphyrin so gut wie unlöslich. Beim Reduzieren mit Natriumamalgam wird die farblose Substanz zurückgebildet.

Um auf das farblose, nicht fassbare Reduktionsprodukt einen Schluss ziehen zu können, wurde die Aufnahme von Sauerstoff quantitativ untersucht. In eine Hempel'sche Bürette, die mit Wasserstoff gefüllt und deren hintere Kugeln zum Abschluss von Luft mit alkalischer Pyrogallollösung gefüllt waren, wurde die farblose Reduktionsflüssigkeit durch die Kapillare direkt aus dem Reduktionsgefäss eingesaugt, so dass sie die Absorptionskugeln passend füllte. Alsdann wurde in ein Hempel'sches Eudiometergefäss mit Niveauröhre ein gemessenes Volumen Sauerstoff gefüllt und durch die Kapillare mit der reduzierten Lösung in Berührung gebracht. Die Absorption dauert unter diesen Umständen fast einen ganzen Tag und die merkliche Abnahme des Sauerstoffvolumens hörte auf, als auf ein Molekül reduziertes Hämatoporphyrin annähernd ein halbes Sauerstoffatom verbraucht war.

Es steht dieses Ergebnis in vorläufig unlösbarem Widerspruch mit den Resultaten der Analyse, indem von der Reduktionsflüssigkeit weniger direkt bestimmbarer Sauerstoff aufgenommen wird, als es die Analyse des Körpers erfordert. Es mag dieser Widerspruch daher rühren, dass die ohnehin äusserst langsam vor sich gehende Absorption des Sauerstoffs unter den in der Hempel'schen Bürette gegebenen Bedingungen nicht oder nur in ausserordentlich langer Zeit zum Abschluss kommt, so dass man die Beobachtung der Absorption gemessener Volumina Sauerstoff nicht zur Grundlage quantitativer Betrachtungen machen kann. Nach dem zuverlässigeren Ergebnis der Analyse spielt sich der Vorgang der Reduktion und nachfolgenden Sauerstoffabsorption wahrscheinlich nach dem Schema der folgenden Gleichung ab:

1. $C_{34}H_{38}N_4O_6 + 6H = C_{34}H_{40}N_4O_4 + 2H_2O$.
2. $C_{34}H_{40}N_4O_4 + 2O = C_{34}H_{38}N_4O_5 + H_2O$.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass auch das Hämin und Hämatin, mit Natriumamalgam reduziert, unter Abspaltung des Eisens den gleichen Körper liefern.

Anhang.

Über ein Cholesterinderivat, das bei der Darstellung von Hämin beobachtet wurde.

Bei der Darstellung des Hämins nach der Eisessigmethode wurde nach längerem Stehen das Auftreten von langen haarförmigen Kristallen beobachtet. Da in der Literatur sich hierüber keine Angaben finden, war es von Interesse, diesen Körper zu isolieren und seine Identität zu ermitteln. Dies war zunächst mit einigen Schwierigkeiten verknüpft, da er sich nur in äusserst geringer Menge bildete und die schleimige Beschaffenheit der eiweisshaltigen Flüssigkeit ein Abfiltrieren fast unmöglich machte. Beim ruhigen Stehen vereinigten sich jedoch die filzigen Kristalle zu einer Wolke, die durch Abhebern von der Flüssigkeit getrennt werden konnte. Nach dem Absaugen und Auswaschen wurden die Kristalle in heissem absolutem Alkohol gelöst und einige Zeit mit Tierkohle gekocht. Das farblose Filtrat schied beim Erkalten ein Öl ab, das allmählich erstarrte, ohne jedoch kristallinische Struktur zu zeigen. Durch einen Kunstgriff gelang es, deutliche Kristalle zu erhalten; wenn man nämlich soviel absoluten Alkohol nimmt, dass sich bei Zimmertemperatur kein Öl abscheidet. Überlässt man nun die Flüssigkeit bei 0^0 der Ruhe, so scheiden sich glänzende Schüppchen in reichlicher Menge ab. Der Körper war stickstofffrei und hatte den Schmelzpunkt 43^0. Betreffs seiner Herkunft

konnte er entweder von den Blutkörperchen oder dem Blutserum stammen, oder vielleicht ein Spaltungsprodukt des Hämins sein. Letzteres schien aber sehr unwahrscheinlich.

Um diese Verhältnisse aufzuklären, wurden einerseits Blutkörperchen vom Serum durch Behandeln mit 4%iger Kochsalzlösung gesenkt und nach dem Abgiessen der Kochsalzlösung der abgeschiedene dicke Blutkörperchenbrei mit physiologischer Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volumen des Blutes gebracht und in kochsalzhaltigen Eisessig eingetragen. Andererseits wurde Serum, das möglichst von Blutkörperchen frei war, im gleichen Verhältnis mit Kochsalzeisessig behandelt. Die Blutkörperchenaufschwemmung lieferte schöne Häminkristalle, aber selbst bei sehr langem Stehen trat der weisse Körper nicht auf. Das mit Eisessig behandelte Serum blieb zunächst ganz klar; am zweiten Tag aber trat schon eine Trübung ein, die, wie unter dem Mikroskop zu sehen war, aus kleinen Öltröpfchen bestand. Nach achttägigem Stehen hatten sich die Öltröpfchen zu einer Wolke von weissen filzigen Kristallen vereinigt, die sich leicht absaugen liessen. Zum Umkristallisieren wurden sie in heissem Eisessig gelöst und die erkaltete Lösung so lange mit Wasser versetzt, bis eben Trübung eintrat. Nachdem noch einige Impfkristalle zugegeben waren, wurde in die Kälte gestellt. Am andern Tag hatten sich kleine Nädelchen abgeschieden, die abfiltriert und gesammelt wurden. Ein Liter Serum ergab 0,35—0,40 g Rohprodukt. Die Schmelzpunktbestimmung ergab als ziemlich scharfen Punkt 43°.

Beim Erhitzen trat Zersetzung und Acroleïngeruch auf. Auch machte sich beim Aufbewahren ein Geruch nach ranzigem Fett bemerkbar. Der Körper zeigte ferner dem Cholesterin sehr ähnliche, aber doch nicht vollkommen identische Reaktionen. Genaueren Aufschluss gab die Verseifung. Diese wurde durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge bewerkstelligt. Nach

dem Erkalten wurde etwas eingedampft, hierauf stark mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt; der durch Verdünnen mit Wasser ausgeschiedene Niederschlag ging glatt in den Äther über. Die ätherische Lösung hinterliess beim Eindampfen einen kristallinischen Rückstand, der nach dem Umkristallisieren aus Äther den Schmelzpunkt 145° zeigte. Dieser ist übereinstimmend mit dem des Cholesterins, dessen sonstige Reaktionen er auch gab.

Die alkalische Seifenlösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und das ausgeschiedene Öl mit Äther ausgeschüttelt. Beim Verdampfen des letzteren hinterblieb ein schmieriges, ranzig riechendes Öl, das durch Addition von Brom in ätherischer Lösung als Ölsäure erkannt wurde.

Der weisse Körper ist also identisch mit dem von Hürtle[1]) beschriebenen Cholesterinoleat, das derselbe aus Blutserum durch Behandeln mit Alkohol erhalten hatte.

Zusammenfassung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

Es wurde nachgewiesen, dass das aus Oxyhämoglobin durch verdünnte Säuren abgespaltene Hämatin identisch ist mit aus Hämin durch Alkali darstellbarem. Beide geben dasselbe Hämin von der empirischen Zusammensetzung $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$.

Die sämtlichen Hämine, welche aus verschiedenen Blutsorten dargestellt worden sind, sind identisch untereinander. Auch das v. Zeyneck'sche „Verdauungs-Hämin“ von der Formel $C_{34}H_{35}N_5O_4FeCl$ ist kein selbständiges chemisches Individuum, sondern hat nach gehöriger Reinigung die Zusammensetzung aller Hämine $C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl$.

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie 21, 331.

Im Hämin und Hämatin muss das Eisen als dreiwertig angenommen werden. Die drei Valenzen sind so verteilt, dass zwei derselben höchst wahrscheinlich zwei Wasserstoffatome zweier Pyrrolringen angehöriger Imidogruppen substituieren, während die dritte durch Chlor resp. Hydroxyl besetzt ist. Es ist demnach das Hämin ein substituiertes Ferrichlorid, das Hämatin ein substituiertes Ferrihydroxyd.

Die Bildung von Hämatoporphyrin muss in zwei getrennten Phasen verlaufen, so dass in der ersten das Eisen abgespalten und zugleich Bromwasserstoff angelagert, in der zweiten das Brom durch Hydroxyl ersetzt wird.

Die Löslichkeit des Hämins in Basen bei Ausschluss von Wasser beruht nicht auf Abspaltung von Salzsäure und Bildung von Dehydrochloridhämin, sondern auf Salzbildung.

Auf Grund des Pikrats des grünen basischen Körpers kommt dem Hämatoporphyrin die Molekulargrösse C_{34}, nicht C_{16} zu.

Durch Einwirkung von Salzsäure und Natriumchlorat wurden grüne und farblose Hämatoporphyrinderivate dargestellt, welche zwischen Hämatoporphyrin und den Hämatinsäuren stehen.

Durch Reduktion des Hämatoporphyrins mit Natriumamalgam gelangt man zu einem farblosen Körper, dessen alkalische Lösung an der Luft begierig Sauerstoff absorbiert und in einen Körper von geringerem Sauerstoffgehalt als das Hämatoporphyrin übergeht.

Bei der Darstellung des Hämins wurde das Auftreten von aus dem Serum stammendem Cholesterinoleat beobachtet.

Lebenslauf.

Paul Ludwig Eppinger wurde geboren am 5. Oktober 1879 zu Ludwigsburg. Er ist württembergischer Staatsangehöriger und bekennt sich zur protestantischen Konfession. Er besuchte das damalige Lyzeum in Ludwigsburg bis zur VII. Klasse. Nach in Neckarthailfingen absolvierter dreijähriger Lehrzeit konditionierte er in Urach, Zürich und Aubonne (Schweiz). Im Oktober 1901 bezog er die Universität München, woselbst er im Sommersemester 1903 die pharmazeutische Staatsprüfung ablegte und war an genannter Universität weiterhin bis zum Wintersemester 1906/07 immatrikuliert.